

Rec'd PCT/PTO 07 FEB 2005  
PCT/KR 03/01626  
R07/KR 17.09.2003

REC'D 01 OCT 2003

WPO PCT

대

한 민

국

특 허

장

KOREAN INTELLECTUAL  
PROPERTY OFFICE

별첨 사본은 아래 출원의 원본과 동일함을 증명함.

This is to certify that the following application annexed hereto  
is a true copy from the records of the Korean Intellectual  
Property Office.

출 원 번 호 : 10-2002-0048073

Application Number

출 원 년 월 일 : 2002년 08월 14일

Date of Application AUG 14, 2002

**PRIORITY DOCUMENT**

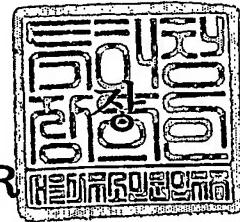
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH  
RULE 17.1(a) OR (b)

출 원 인 : 에스케이케미칼주식회사  
Applicant(s) SK CHEMICALS. CO., LTD.

2003 년 08 월 13 일



특 허 청  
COMMISSIONER



## 【서지사항】

【서류명】	특허출원서
【권리구분】	특허
【수신처】	특허청장
【제출일자】	2002.08.14
【발명의 명칭】	여드름 예방 및 치료용 피부외용제 조성을 Topical formulation for prevention and treatment of acne
【출원인】	
【명칭】	에스케이케미칼 주식회사
【출원인코드】	1-1998-002067-1
【대리인】	
【성명】	허상훈
【대리인코드】	9-1998-000602-6
【포괄위임등록번호】	2002-035634-7
【발명자】	
【성명의 국문표기】	이순근
【성명의 영문표기】	LEE, Soon Keun
【주민등록번호】	651228-1899237
【우편번호】	440-850
【주소】	경기도 수원시 장안구 조원동 881 한일타운 147-902
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	곽의종
【성명의 영문표기】	KWAK, Wie-Jong
【주민등록번호】	550302-1029513
【우편번호】	137-044
【주소】	서울특별시 서초구 반포4동 한신서래아파트 3동 803호
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	한창균
【성명의 영문표기】	HAN, Chang-Kyun
【주민등록번호】	630519-1052618

【우편번호】	153-014
【주소】	서울특별시 금천구 독산4동 1019-28
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	김주현
【성명의 영문표기】	KIM, Joo Hyon
【주민등록번호】	720108-1347719
【우편번호】	461-200
【주소】	경기도 성남시 수정구 복정동 700-9 B01호
【국적】	KR
【취지】	특허법 제42조의 규정에 의하여 위와 같이 출원합니다. 대 리인 허상 훈 (인)
【수수료】	
【기본출원료】	20 면 29,000 원
【가산출원료】	12 면 12,000 원
【우선권주장료】	0 건 0 원
【심사청구료】	0 항 0 원
【합계】	41,000 원
【첨부서류】	1. 요약서·명세서(도면)_1통

**【요약서】****【요약】**

본 발명은 여드름 예방 및 치료용 피부외용제 조성물에 관한 것으로서, 더욱 상세하게는 여드름의 증상을 나타내는 주된 원인균인 프로피오니박테리움 아크네(*Propionibacterium acnes*)에 대한 항균작용, 5 $\alpha$ -리덕타아제(5 $\alpha$ -Reductase) 효소저해에 의한 피지과잉생성 억제, 면포형성 억제 및 각질박리작용, 항염작용을 나타내 여드름의 예방 및 치료에 효과가 있는 도두, 백자인, 황련 추출물 또는 이들의 혼합물을 함유하는 피부 외용제 조성물에 관한 것이다.

**【색인어】**

여드름, 도두, 백자인, 황련

**【명세서】****【발명의 명칭】**

여드름 예방 및 치료용 피부외용제 조성물{Topical formulation for prevention and treatment of acne}

**【발명의 상세한 설명】****【발명의 목적】****【발명이 속하는 기술분야 및 그 분야의 종래기술】**

- <1> 본 발명은 여드름 예방 및 치료용 피부외용제 조성물에 관한 것으로서, 더욱 상세하게는 여드름의 증상을 나타내는 주된 원인균인 프로피오니박테리움 아크네(*Propionibacterium acnes*)에 대한 항균작용, 5 $\alpha$ -리덕타아제(5 $\alpha$ -Reductase) 효소저해에 의한 피지과잉생성 억제, 면포형성 억제 및 각질박리작용, 항염작용을 나타내 여드름의 예방 및 치료에 효과가 있는 도두, 백자인, 황련 추출물 또는 이들의 혼합물을 함유하는 피부 외용제 조성물에 관한 것이다.
- <2> 여드름은 90%정도가 10대에 나타나지만 20-30대의 성인 남녀에게도 나타난다. 여드름(심상성 좌창 : Acne vulgaris)은 모낭 및 피지선에 발생하는 만성 염증성 질환을 말하는 것으로 그 발생원인은 크게 피지분비의 증가, 모낭상피의 이상 과각화 및 혐기성 피부상재균인 프로피오니박테리움 아크네의 증식이 주 원인이라 할 수 있으며 또한 여러 가지 메커니즘이 복합적으로 작용할 수 있다. 이렇게 생기는 여드름은 피부 중 가장 잘 보이는 부위, 특히 얼굴, 가슴, 등, 목 및 상박 등에 나타나는 여드름, 뾰루지, 농포, 낭종, 작은혹, 상흔으로 특징지워지는 모낭지선의 만성질환이다.

<3> 여드름의 초기단계는 지나치게 분비된 피지가 모공에 쌓여 모포안이 피지의 압력으로 팽창되어 뾰루지(Comedo)가 되고 모공이 막힌 것은 흰 여드름(폐쇄면포), 모공의 끝이 조금 열려서 검게 보이는 것이 검은 여드름(개방면포)이다. 더욱더 여드름이 진행되면 세균이 염증을 일으켜서 피부가 붉고 좁쌀 같은 것이 생기는 홍색구진형, 이것이 끓아서 고름을 지닌 농포형으로 구별된다. 이렇게 생긴 10대의 여드름과 성인의 여드름은 다소의 차이를 보이는데 특성을 비교하면 다음 표 1과 같다.

<4> 【표 1】

10대 여드름과 성인 여드름의 차이

구 분	10대 여드름	성인 여드름
발생부위	이마, 얼굴전체, 피지선이 있는 곳 어디든지 발생됨.	볼, 입주위, 턱 등 10대에 비교해서 발생부위는 얼굴 아래쪽인 경향이 있음.
계절	봄, 여름 피지선의 활발화와 함께 발생됨.	일년내내 계절에 관계없이 발생됨.
증상	피지과다와 동시에 진행. 피지분비가 활발한 부위에 좁쌀 같은 것이 생김.	건조와 동시에 진행 작은 여드름 돌기들이 반복됨(단발형). 치료가 늦고 흔적이 남음.
원인	성장기의 신체의 불안정.	호르몬의 불균형, 수면부족, 피로, 스트레스, 생리 등 몸과 마음의 상태 등. 일반적인 피부상태와 관계가 적음.

<5> 상기 표 1에서 보는 바와 같이 10대의 여드름은 주로 피지분비가 왕성하게

되는 봄, 여름에 걸쳐서 이마-얼굴전체에 발생, 지성피부에서 발생하기 쉬운 반면 성인의 경우는 부위가 한정되고 일년 내내 발생을 되풀이하는 경향이 있어 지질과는 관계가 적고 호르몬의 불균형, 스트레스, 불규칙적인 식생활, 몸 상태의 불량 등 신체나 정신상태가 영향을 주므로 발생요인이 복잡하여 여드름 그 자체는 완치되어도 여드름이 없어진 곳에 색소가 침착되어 기미로 되기도 하고 표면이 험물되어 여드름 홍터(Crater)가 형성되기 쉬운 특징이 있다. 성인 여드름의 원인으로 특히 주목받는 호로몬에는 피지선을 자극해서 피지를 분비시키는 남성호르몬과 그 작용을 억제하는 여성호르몬의 균형이 붕괴되면 피지가 과잉으로 분비되어 여드름의 원인으로 된다.

<6> 지금까지 여드름을 치료하기 위해 의약분야에서 에리드로마이신, 벤조일페록사이드 등의 항생제를 이용하여 여드름균을 억제하거나 여성호르몬인 에스트로겐을 이용한 피지조절 치료를 수행하였으나 부작용을 가지고 있는 실정이며, 화장품 분야에서는 비타민 A 유도체를 이용한 피부각질 제거 및 트리클로란, 살리실산 등을 이용한 여드름균 억제 목적으로 사용되어 왔지만 이러한 약제들은 어느 정도의 효과를 나타내는 반면 대부분 피부발적, 피부파민 반응 또는 광파민 반응 등의 부작용 및 재발이 자주되는 문제점을 가지고 있어 여드름 예방 및 치유개념의 제품은 없는 실정이다.

### 【발명이 이루고자 하는 기술적 과제】

<7> 이에, 본 발명자들은 여드름의 치유 및 예방에 효과가 있는 피부 외용제를 개발하기 위해 민간요법 관련서적, 동의보감, 본초학, 중약대사전, 천연물과학, 식물도감, 생약규격집, 대한약전, 생약학회 논문등의 문헌정보를 근거로 하여 여드름 치료 기작(항균작용, 피지분비억제작용, 각질박리작용, 항염작용 등)에 효과가 있을 것으로 예상되는

생약중 저자극성이며 여드름 예방 및 치료기작에 효과가 있는 도두, 백자인, 황련이 여드름 예방 및 치료 원료로서 가능성이 있음을 발견하고 본 발명을 완성하게 되었다.

- <8> 따라서, 본 발명의 목적은 도두, 백자인, 황련 추출물을 함유함을 특징으로 하는 여드름 예방 및 치유에 효과가 있는 피부 외용제를 제공하는데 있다.
- <9> 또한, 본 발명의 다른 목적은 저자극성이며 여드름의 예방과 치유에 효과가 있는 생약 조성물을 제공하는데 있다.

#### 【발명의 구성 및 작용】

- <10> 본 발명은 도두, 백자인, 황련으로 구성된 그룹 중에서 선택된 추출물을 1종 또는 2종이상 함유하는 여드름 예방 및 치료용 피부 외용제 조성물을 그 특징으로 한다.
- <11> 이와 같은 본 발명을 더욱 상세히 설명하면 다음과 같다.
- <12> 본 발명은 여드름의 증상을 나타내는 주된 원인균인 프로피오니박테리움 아크네(*Propionibacterium acnes*)에 대한 항균작용, 5a-리덕타아제(5a-Reductase) 효소저해에 의한 피지과잉생성 억제, 면포형성 억제 및 각질박리작용, 항염작용을 나타내 여드름의 예방 및 치료에 효과가 있는 도두, 백자인, 황련 추출물 또는 이들의 혼합물을 함유하는 피부 외용제 조성물에 관한 것이다.
- <13> 도두(작두콩, *Cavalia gladiata*)는 한해살이 덩굴성 콩과식물로 콩깍지가 작두칼과 같이 생겼다고 하여 작두콩 또는 칼콩이라고 하며, 우리나라 중부이남과 중국의 장강유역 및 남방 각성에서 재배되고 있다. 이 식물의 뿌리, 꼬투리도 약용으로 사용하며, 도두에는 비타민 A와 C 및 가수분해 효소인 우레아제를 비롯하여 헤마글루티닌

(Hemagglutinine), 카나바닌(Canavanine) 등이 들어있고 옛날부터 중국에서는 고급요리 및 한약재로 허한으로 인한 딸꾹질, 구토, 복통치료제로 사용되어 왔으며 현재 민간요법으로 축농증, 치질 등 화농성 질환에 효과가 있다고 알려져 있다.

<14> 또한, 황련(*Coptis chinensis*)은 미나리아제비과 다년생 초본식물의 뿌리줄기를 약재로 사용하는데 오래전부터 한방에서 사용해 오던 재료로서 피부 및 점막에 대한 자극이 없는 안전한 식물이다. 황련은 베르베린(berberine), 콥티신(coptisine), 워레닌(worenine), 팔마틴(palmatine), 콜룸바민(columbamine) 등의 알칼로이드를 함유하는 외에 오바쿠논(obakunone), 오바쿠락톤(obakulactone)을 함유한다. 중국에서는 옛부터 화상치료, 화농성감염의 치료, 감염성 피부염치료, 축농증치료, 구개면 염증치료, 다형 삼출성 흉반의 치료, 위장약, 지사정장약의 원료로 사용해 왔다.

<15> 백자인(측백자, *Biota orientalis*)은 백과식물 측백의 씨앗으로 잡질 및 남아있는 외각과 껍데기를 제거한 후 쪘서 햅볕에 말린 것이다. 신선한 것은 담황색 혹은 황백색이지만 오래 두면 황갈색으로 변하면서 기름이 스며 나온다. 주로 중국의 산동, 운남, 하남, 하북에서 나는데, 종자에는 지방유가 약 14% 함유되어 있으며 소량의 정유, 사포닌도 함유되어 있다. 염증약, 진정약으로 신경불안, 제한, 변비치료 및 탈모치료제로 사용되어 왔다.

<16> 도두, 백자인 및 황련을 각각 분말화하고, 정제수, 메탄올, 에탄올, 프로판올, 부탄올, 글리세롤, 프로필렌글리콜, 1,3-부틸렌 글리콜, 메틸 아세테이트, 에틸 아세테이트, 벤젠, 헥산, 디에틸 에테르, 디클로로메탄 중에서 선택된 1종 또는 2종 이상의 추출용매에 가열추출한 후 여과하고 감압농축 및 동결건조하여 건조분말을 얻는다.

<17> 도두, 백자인 및 황련 혼합 생약 추출물은 상기 도두, 백자인 및 황련을 각각 분말화하고, 이들의 혼합물을 추출하여 수득하거나, 상기 도두, 백자인 및 황련을 각각 분말화하고, 각각의 추출물을 수득하여 혼합하는 경우 모두 해당된다.

<18> 상기 추출물을 혼합하여 사용할 때에는 도두 0.01 ~ 10 중량%와 백자인 0.01 ~ 10 중량%이거나 도두 0.01 ~ 10 중량%와 황련 0.001 ~ 5 중량%이거나 또는 백자인 0.01 ~ 10 중량%와 황련 0.001 ~ 5 중량%인 2종의 생약 추출물이 함유되며, 도두 0.01 ~ 10 중량%, 백자인 0.01 ~ 10 중량% 및 황련 0.001 ~ 5 중량%인 3종의 생약 추출물이 함유된다. 이때 상기 범위를 벗어나면 낮은 농도에서는 효능이 미약하고 높은 농도에서는 피부 부작용 및 제형화의 문제점이 있다.

<19> 한편, 상기 피부외용제 조성물은 도두, 백자인, 황련 중에서 선택된 1종 또는 2종 이상의 추출 건조분말은 전체 조성물에 대해 0.001 내지 20.0 중량% 함유하는 것이 바람직하다. 이때, 0.001 중량% 미만일 경우에는 치료효과가 미약한 문제점이 있고, 20 중량% 초과하면 제형화의 어려움과 피부 부작용의 문제가 있어 적합하지 않다.

<20> 한편, 본 발명에 따른 상기 추출물 이외에도 약학적으로 허용 가능한 담체 또는 부형제를 사용하여 연고제, 첨부제 등의 의약품과 에멀젼, 젤, 팩, 화장수, 비누 등 화장료의 피부외용제로 사용할 수 있으며 이들의 제조방법은 공지방법을 따른다.

<21> 상기 추출물로 표시되는 유효성분의 유효 도포량은 여드름의 형태, 크기, 부위, 연령에 따라 다양화될 수 있지만, 일반적으로 1일 2회 또는 수회 범위 내에서 도포된다.

<22> 따라서, 본 발명에 따른 도두, 백자인, 황련 또는 이의 혼합 추출물을 함유하는 피부외용제 조성물은 여드름 예방 및 치료에 매우 유용하다.

<23> 이하, 본 발명은 다음 실시예에 의거하여 더욱 상세히 설명하겠는바, 본 발명이 이에 한정되는 것은 아니다.

<24> 실시예 1: 도두, 백자인, 황련 추출물의 제조

<25> 본 발명에 사용된 도두, 백자인 및 황련 추출물의 추출방법을 설명하면 다음과 같다.

<26> 먼저 각각의 생약 200 g을 정제수로 세척, 건조하고 생약분쇄기로 분말화하여 약 10배 부피량의 80% 에탄올 용매를 가하였다. 추출방법으로는 냉각콘덴서가 장치되어 용매가 증발되는 것을 방지한 상태에서 80 °C로 8시간동안 가열하여 추출한 후 400 메쉬 여과포로 여과하고 잔사를 동일한 방법으로 1회 더 추출하였다. 각각 생약추출액을 상온으로 냉각하여 와트만 2번 여과지로 여과한 후 냉각 콘덴서가 달린 증류장치 (Buchi Rotavapor R-124, Water Bath B-480 Made in switzerland, Eyela A-3S Tokyo rikakikai)를 이용하여 48 °C로 유지, 증발되어 나오는 용매를 회수하면서 감압농축하고 동결건조시켜 그 건조중량으로서 도두 15.8 g, 백자인 8.9 g, 황련 14.6 g을 얻었다.

<27> 실시예 2 : 5 α-리덕타아제 억제력 평가

<28> 생약추출물의 5 $\alpha$ -리덕타아제 활성억제력을 스크리닝하기 위해 사용된 테스토스테론 5 $\alpha$ -리덕타아제 제조의 모든 과정은 4 °C 이하에서 수행하였다. 본 실험에 사용된 흰쥐는 Sprague-Dawley계로서 8주령의 성숙한 암컷을 디에틸에테르로 호흡 마취하고 경추이탈로 죽인 후 해부하여 간을 적출하여 PBS(phosphate buffered saline)로 3회 세척한 후 3배 용량의 얼음으로 냉각시킨 완충용액(Ice-cold buffer)(50 mM 인산나트륨, pH 6.8, 0.25 M 백당, 1 mM 디치오스레이틀)을 첨가하여 세포파쇄기(Polytron Homogenizer)로 간세포를 분쇄하여 균질화한 후 혼탁액을 조제하였다. 이 혼탁액에서 5 $\alpha$ -리덕타아제를 분리하기 위하여 혼탁액을 초음파 분쇄(Ultrasonication, 5분)한 후 유효단백질 층을 얻기 위하여 원심분리(15000 rpm, 4 °C, 5분)하여 상등액을 상기 완충용액에 혼탁하여 -80 °C에 보관하였다. 상기의 방법으로 얻어진 단백질 혼탁액의 단백질 정량은 Bradford 방법으로 수행되었고 ELISA 리더를 사용하여 정확한 단백질량을 결정하였다.

<29> 5 $\alpha$ -리덕타아제 활성억제 효과를 평가하기 위해 반응용액 50  $\mu$ l에 저해물질의 에탄올용액 혹은 시험물질(생약추출물 70% 에탄올용액) 10  $\mu$ l를 첨가한 후 단백질 혼탁액을 가하여 반응용액을 100  $\mu$ l로 하였으며 이때 반응용액의 조건은 50 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>(pH 6.8), 25 mM KC1, 500 mM NADPH 및 50 mM (3H) 테스토스테론(Testosterone)이었다. 37 °C 수욕상에서 10분간 반응시킨 후 250  $\mu$ l의 반응종결시액(70% 사이크로헥산, 30% 에틸아세테이트 혼합액)을 가하여 반응을 종결시켰다. 반응종결시액에 추출된 스테로이드(Steroids)를 얻기 위하여 원심분리한 후 상등액을 취하여 후드에서 하루 방치하여 반응용매를 휘발시킨 후 잔류물을 클로로포름 20  $\mu$ l에 녹이고 이것을 TLC 플레이트상에 스포팅(Spotting)하고 TLC 챔버에서 30분간 전개용매(톨루엔 : 아세톤 = 4 : 1)로 전개시킨

후 전개된 플레이트를 하이퍼필름(Hyper film)에 3일간 감광시키고 감광된 면적을 농도계(Densitometer)로 측정하였으며 다음 수학식 1로 테스토스테론 5α-리덕타아제의 활성억제율을 계산하였다. 그 결과, 다음 표 2와 표 3에 나타내었다.

&lt;30&gt;

$$5\alpha\text{-리덕타아제의 활성억제율}(\%) = \frac{A - B}{A} \times 100$$

【수학식 1】

&lt;31&gt; A = 시험물질 미 첨가시 테스토스테론에서 디하이드로-테스토스테론으로의 전환율

&lt;32&gt; B = 시험물질 첨가시 테스토스테론에서 디하이드로-테스토스테론으로의 전환율

&lt;33&gt; 【표 2】

구 분	농도(%)	5α-리덕타아제의 활성억제율(%)
도두	0.1	100.0
	0.01	38.3
백자인	0.1	100.0
	0.01	94.0
	0.001	34.7
황련	0.1	100.0
	0.01	44.9
아제라의 산	1.0	100.0
	0.1	19.8

&lt;34&gt;

【표 3】

구 분	농도별 5α-리덕타아제의 활성 억제율(%)		
	0.1%	0.05%	0.01%
백자인:도두(50:50)	100	100	35.2
백자인:황련(50:50)	100	100	46.9
도두:황령(50:50)	100	100	31.7
도두:백자인:황련 (34:33:33)	100	100	66.8
도두:백자인:황련 (70:20:10)	100	100	92.6

<35> 상기 표 2에서 보는 바와 같이 3가지 추출물(도두, 백자인, 황련)이 5α-리덕타아제의 활성을 억제하는 것으로 확인되었다. 또한, 3가지 추출물을 2종 이상 적정 비율로 혼합하여 70% 에탄올 용액에 용해시켜 실험농도(0.1, 0.05, 0.01%(w/v))별로 5α-리덕타아제 활성 억제율을 측정한 결과 상기 표 3에 보는 바와 같이 낮은 농도에서도 5α-리덕타아제의 활성을 현저하게 억제시키는 것으로 평가되었으며 단독으로 생약을 사용한 경우 보다 더 강력한 활성 억제효과를 나타내었다. 이것은 혼합추출물이 적정비율로 용해되면 5α-리덕타아제에 대한 활성 억제율에 대한 시너지 효과를 나타내는 것을 뜻하며 활성 억제력은 상기 실험한 추출물의 조성에 국한하는 것은 아니다.

#### <36> 실시예 3 : 여드름 균에 대한 항균력 평가

<37> 상기 3가지 추출물(도두, 백자인, 황련)의 항균력 실험은 액체배지에서 배양시킨 여드름균에 일정한 농도의 동결건조 분말화한 상기 추출물을 가하여 혼기성 배양조에서

배양한 후 여드름 균(*Propionibacterium acnes*)의 발육을 억제하는 최소억제농도(MIC)를 측정함으로써 수행하였으며, 실험과정은 다음과 같다.

- <38> 여드름 균(*Propionibacterium acnes*)을 레인포스드 클로스트리디얼(Reinforced Clostridial) 배지에서 3일간 37 °C로 배양하여 활력이 좋아질 때까지 계속 계대배양하였다.
- <39> 첫째로 액체배양법은 레인포스드 클로스트리디얼 배지를 스크류 캡 투브(Screw Cap Tube)에 10 ml를 넣고 121 °C로 20분간 멸균하였다. 멸균이 끝나면 별개로 멸균한 액체 파라핀 0.5 ml를 액체배지 위에 떨어뜨려 산소와의 접촉을 막는다. 배지가 식으면 균을 접종하여 37 °C에서 배양하며 통상 72시간 이상 배양하였다.
- <40> 둘째로 고체배양법은 고체배지는 레인포스드 클로스트리디얼 배지에 아가 1.0%를 추가하여 배지를 제조하고 스크류 캡 투브에 10 ml를 넣고 121 °C, 20분간 멸균하였다. 배지가 식으면 백금 루프로 균을 접종하여 37 °C, 72시간 천자배양하였다.
- <41> 셋째로 플레이트 배양법은 고체배양 배지와 같으며 플레이트에 멸균한 아가배지를 부은 후 식힌다. 완전히 식어 굳어지면 접종하여 혐기성 용기(Anaerobic Jar)에 넣고 가스팩(Gas-Pak)에 10 ml의 물을 넣은 후 뚜껑을 닫아 37 °C에서 72시간 배양하였다.
- <42> 충분히 계대배양을 한 프로피오니박테리움 아크네스의 배양액 1 ml를 취하여 레인포스드 클로스트리디얼 배지에 9 ml씩 넣은 배지에 접종하여 10배 희석하였다. 이렇게 계속 희석하여  $10^{-1}$  내지  $10^{-5}$ 배까지 희석배양액을 만들었다. 동결건조하여 만든 도두, 백자인, 황련 및 2종 이상 혼합 균질액을 실험농도별로 10 ml의 70% 에탄올에 잘 녹인 후 2배씩 희석하여 용액을 만들었다. 이 용액을 0.2 μm 막 여과기(Membrane

Filter)를 이용하여 제균여과하였다. 레인포스드 클로스트리디얼 아가 배지를 멸균한 후 50 °C로 식히고 제균 여과한 추출물을 최종농도가 10 µg/ml ~ 0.1 mg/ml로 되도록 각각 첨가하여 골고루 섞었다. 상기 희석배양액(10<sup>-1</sup> 내지 10<sup>-5</sup> 로 계대 배양한 프로피오니박테리움 아크네스 희석 배양액) 1 ml씩을 취하여 폐트리 접시에 분주하고 각 농도별 아가 배지를 분주하여 잘 섞이도록 흔든 후 정치하여 아가 배지를 경화하였다. 배지가 경화되면 협기성 용기에 넣고 가스팩을 장치한 후 37 °C에서 3일간 배양 후 나타난 콜로니수를 측정하여 대조구와 비교하여 억제율을 계산하였다. 피.아크네스에 대한 항균억제율의 결과를 다음 표 4 및 표 5에 나타내었다.

&lt;43&gt; 【표 4】

피.아크네스에 대한 최소억제농도(MIC)	추출물 농도(%)					
	0.50	0.10	0.05	0.03	0.01	0.005
도두	-	-	-	-	±	+
백자인	-	-	-	±	+	+
황련	-	-	-	-	-	±
벤조일페온사이드 (양성대조군)	-	±	+	+	+	+

주) -:성장억제, ±:의양성, +: 양성

<44> 상기 표 4의 피.아크네스에 대한 항균력 평가결과 각 추출물에 따라 P.Acnes의 최소억제농도(MIC)에 약간의 차이는 있으나 0.03% 정도의 낮은 농도에서 살균력이 나타나기 시작하여 0.1% 이상에서는 여드름균은 완전히 살균되는 것으로 나타나 본 발명의 생약추출물이 매우 낮은 농도에서도 피.아크네스에 대해 탁월한 살균효과를 갖고 있음을 확인할 수 있었다.

&lt;45&gt; 【표 5】

구분	농도별 항균활성 저해율(%)			
	0.1%	0.05%	0.01%	0.005%
백자인:도두 (50:50)	100	100	85.7	33.2
백자인:황련 (50:50)	100	100	89.8	44.9
도두:황련 (50:50)	100	100	92.3	49.7
도두:백자인:황련 (34:33:33)	100	100	92.4	46.8
도두:백자인:황련 (70:20:10)	100	100	92.6	48.6

<46> 상기의 결과와 같이 도두, 백자인, 황련 추출물 중 2종 이상의 추출물을 일정비율로 혼합 사용하여 실험하였을 때 단독 사용시와 비슷하거나 조금 높은 항균활성력을 나타내었다. 특히, 도두, 백자인, 황련이 일정비율로 혼합된 추출물의 각 농도별 항균활성 억제율 및 5a-리덕타아제 효소저해율이 뛰어났다.

#### <47> 실시예 4 : 과각질화 억제능 평가시험

<48> 피부를 구성하는 모든 세포는 적절한 대사과정을 통하여 피부의 항상성을 유지하기 위해 세포의 생성속도와 박리속도를 일정하게 유지한다. 그러므로 피부의 재생속도는 각질층이 박리되는 속도를 측정하여 간접적으로 알 수 있으며 또한 피부의 각질박리는 속도는 각질박리에 따른 피부의 변색정도를 측정하여 박리속도를 측정한다.

<49> 상기 추출물의 유용성을 평가하는데 있어 1차 스크리닝은 털없는 마우스를 이용하여 각질박리촉진효과 유무 시험을 행하였다. 각 생약추출물의 샘플은 상기 실시예 1

의 제조방법을 따라 만들어진 건조분말 추출물 및 양성대조군인 글리콜산과 유산을 70% 에탄올에 용해하여 사용하였으며, 실험과정은 다음과 같다.

<50> 털없는 마우스의 피부를 10% SDS로 30분간 세척하고 실험에 사용할 건조피부를 만들었다. 이어서 10% 초산은 수용액 0.4 ml를 힐탑 챔버(Hill top chamber)로 덮은 후 30분간 폐한 첨부 후 사진현상액에 5분간 침투시켜 초산은 첨부 부위를 흑화시켰다. 그 위에 각 시험생약을 폐한첨부하고 약 24시간 후에 제거했다. 약제 부착전의 착색도와 제거 24시간 후의 퇴색도를 색화계(Colorimeter)로 각각 측정하였다. (퇴색도가 높은 만큼 각질박리 촉진효과가 높다)

<51> 【표 6】

구 분	박리상태	생약추출물 적용 농도(%)		
		0.2	0.1	0.05
도두	균일박리	++	+	±
백자인	균일박리	+	±	-
황련	균일박리	++	+	-
글리콜산	불균일박리	2 중량% (pH 4) ++		
유산	불균일박리	2 중량% (pH 4) ++		

주) ++:현저한 퇴색, +: 퇴색, ±:약간 퇴색, -: 변화없음

<52> 2차 각질박리 촉진효과 정량시험은 1차 검색시험에서 유효성이 있는 도두, 백자인, 황련 추출물의 2종 이상 혼합물을 70% 에탄올 용액에 용해시켜 평가하였는데 피부 변색제로 셀프태닝(Self tanning)제품에 사용되고 있는 디하이드록시 아세톤(Dihydroxy acetone)을 착색제로 사용하였으며, 실험과정은 다음과 같다.

<53> 20대 초반에서 30대 중반의 남녀 20명을 선정하여 윗팔뚝 안쪽을 실험부위로 선정하여 착색시키기 전의 피부밝기를 측정한 후 10% 디하이드록시 아세톤 용액 0.4 ml를 힐 탑 체임버(Hill top chamber)를 이용하여 착색시켰다. 24시간 경과뒤 착색부위를 색화계로 측정하고 2종 이상 혼합추출물의 건조분말을 0.05%, 0.1%, 0.2%의 농도로 각각 70% 에탄올 용액에 용해시켜 0.4 ml씩 1일 2회 30분간 적용 후 색화계로 매일 측정하였다. 디하이드록시 아세톤 적용 24시간 후 측정된 색화계 값을 100으로 하여 매일 탈색되는 값을 %로 환산하여 계산하였다. 판정은 착색된 부위가 정상적인 색으로 돌아오는 시간(일)으로 판정하였다.

<54> 【수학식 2】

$$\text{과각질화 억제율} (\%) = \frac{\text{대조군} - \text{시험군}}{\text{대조군}} \times 100$$

<55> 【표 7】

구분	시험농도별 환원일(일)			억제율(%)
	0.2 중량%	0.1 중량%	0.05 중량%	
대조군		19		-
도두:백자인(50:50)	10	13	16	15.8-47.4
도두:황련(50:50)	10	12	14	26.3-47.4
백자인:황련(50:50)	11	13	15	21.0-42.1
도두:백자인:황련 (34:33:33)	9	11	14	26.3-52.6
도두:백자인:황련 (70:20:10)	9	11	13	31.6-52.6

<56> 상기 표 7에 나타냈듯이 2종 이상 혼합 추출물은 과각질화 억제효과가 0.2% 건조분말 용액에서는 47.4 ~ 52.6 %정도로서 디하이드록시 아세톤으로 착색된 피부를 빠른 시간(일)내에 정상피부 색으로 돌아오게 함을 알 수 있었다. 이는 일정농도의 단독 생

약추출물보다도 2종 이상 혼합 추출물에서 각질박리 효과가 뛰어남을 알 수 있고 특히 도두, 백자인, 황련의 3종 혼합 추출물이 과각질화 억제효과가 가장 뛰어남을 보여준다.

#### <57> 실시예 5 : 항염증 효과

<58> 1) SD생쥐(rat)를 이용한 카라기난 발 부종(Carrageenan foot edema)법

<59> 상기 실시예 1에 의해 제조된 도두, 백자인, 황련 및 2종 이상 혼합추출물을 각각 30 mg/kg으로 복강에 투여한 후 1시간 뒤 0.1%의 카라기난 용액 0.5 ml를 실험동물의 뒷발바닥에 주입하여 염증을 유발시켰다. 카라기난 주입 직후와 주입 후 4시간 뒤의 쥐의 발부피 변화를 측정하여 다음 수학식 3에 의해 억제율(%)을 산출하여 그 결과를 다음 표 8에 나타내었다.

$$<60> \text{억제율}(\%) = \frac{1 - \frac{\Delta V_{\text{처리군}}}{\Delta V_{\text{대조군}}}}{\Delta V_{\text{대조군}}} \times 100$$

【수학식 3】

<61> (  $\Delta V$  : 발부피의 변화 )

<62>

【표 8】

구 분	역제율(%)
도두	68.8 ±12
백자인	46.0 ±10
황련	62.3 ±13
도두:백자인(50:50)	63.1 ±8
도두:황련(50:50)	70.4 ±15
도두:백자인:황련(34:33:33)	75.8 ±9
도두:백자인:황련(70:20:10)	78.4 ±10
아스퍼린	35.2 ±6

## &lt;63&gt; 2) 마우스 귀부종(Balb.c ear edema) 시험

<64> 추출물의 항염증 효과를 알아보기 위해 자극유발물질인 벤잘코늄 클로라이드

(Benzalkonium chloride) 5.0%, 크로톤 오일(Croton oil) 2.5%, 레티노인산(Retinoic acid) 3000 iu/g(음성대조군)을 70% 에탄올용액에 용해시켜 0.3 mg/ear씩 마우스 귀(군당 6마리)에 도포하여 부종을 유발하였다. 부종유발 후 15분, 6시간 뒤에 각각 생약 및 대조군 시료(0.3 mg/ear)를 도포했다. 최초 자극유발물질 도포 후 24시간 뒤에 마우스 귀의 일정 부분을 편치로 도려낸 후 귀의 무게를 측정하고 부종정도를 마이크로미터로 3회씩 반복 측정하여 3가지 자극물질에 대해 평균값을 구하고 항염증 효과를 평가하여 그 결과를 다음 표 9에 나타냈다.

&lt;65&gt; 【표 9】

구 분	귀무게 억제율(%)	귀두께 억제율(%)
도두	49.2	53.8
백자인	28.8	30.6
황련	36.0	38.9
도두:백자인(50:50)	34.1	35.3
도두:황련(50:50)	44.7	48.0
백자인:황련(50:50)	32.3	34.6
도두:백자인:황련(34:33:33)	46.0	54.2
도두:백자인:황련(70:20:10)	45.3	58.6
감초산	38.4	42.7
인도메타신	45.6	52.0

<66> 억제율(%) =  $\frac{A - B}{A} \times 100$

【수학식 4】

<67> A : 대조군 귀의 평균두께(음성대조군을 처리한 귀의 두께 - 비처리한 귀의 두께)

<68> B : 시료군 귀의 두께(시료처리한 귀의 두께 - 비처리한 귀의 두께)

<69> 상기 표 8과 표 9의 결과에서 알 수 있듯이 추출물을 처리한 군은 양성대조군으로 사용한 감초산 및 인도메타신과 비슷한 부종억제효과를 보였다. 특히, 도두 단독 추출물과 도두, 백자인, 황련 혼합추출물이 부종억제효과가 우수하였으며 음성대조군 용액에 비하여 110 ~ 200% 정도의 뛰어난 부종억제효과를 나타냈다.

<70> 실시예 6 : 흰색토끼(White Rabbit) 귀를 이용한 면포완화 효과

<71> 시험계 - 여드름 효능 평가법으로 널리 알려져 있는 이 방법을 사용하여 무게 2 ~ 3 kg의 4개월령 전후의 뉴질랜드산 수컷 흰색토끼(New Zealand White Rabbit)를 입수하여 1주일의 순화과정을 거쳐 육안으로 보아 건강한 동물만 선정하여 사용하였다.

<72> 시험물질 - 시험군은 3종(도두, 백자인, 황련)의 0.1%(w/v) 생약추출 견조분말 및 2종 이상 혼합생약 견조분말 0.1%를 70% 에탄올 용액에 용해하여 사용하였고 양성대조군인 아젤라인산 1.0%를 70% 에탄올용액에, 음성대조군로는 70% 에탄올 용액을 사용하였다.

<73> 시험계의 구분 - 면포유발물질인 이소프로필 미리스테이트(Isopropyl Myriatate, Sigma시약)를 사용하였고 IPM을 토끼 양쪽 귀에 2주일 간 매일 도포하여 면포를 형성시켰으며, 이중에서 육안으로 관찰하여 전형적인 면포가 관찰되는 토끼만을 선정한 후 각 토끼의 면포정도를 고려하여 각군당 6마리가 되도록 분류하여 시험하였다. IPM 적용 2주 후 토끼 귀의 외관상태는 개체에 따라 약간의 차이는 있었으나 대부분 심한 정도의 모공확대 및 면포형성, 심한정도의 외피, 모공의 과각화 및 가피형성 그리고 중등도 이상의 염증발생이 관찰되었다.

<74> 시료물질의 투여방법 - 토끼의 오른쪽 귀에는 시험군 및 양성대조군을 왼쪽 귀에는 음성대조군을 1일 1회 0.5 ml씩 2주일간 매일 투여한 후 면봉으로 가볍게 도포하여 펴 바르는 방법을 사용하고 2주 후 양쪽귀를 상호비교 평가하였다.

#### <75> <육안적 관찰>

<76> 육안 판정기준은 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 의 7단계로 구분하여 판정하였고 면포의 면적을 비교 판정하였다. 면포치유기간은 2주간 진행하였으며 시료물

질을 도포하면서 면포의 병변 진행정도와 면포감소 효과를 육안 판정하였으며 그 결과를 다음 표 10에 나타냈다.

<77> <육안판정의 기준 >

<78> 0 : 대조군과 차이가 없음

<79> 0.5 : 0과 1의 중간정도 증상

<80> 1 : 총혈, 모세관 출혈, 약한 모공 각화증 및 모공비대증을 볼 수 있음

<81> 1.5 : 1과 2의 중간정도 증상

<82> 2 : 중등도의 모공 각화증 및 모공 비대증

<83> 2.5 : 2와 3의 중간 정도 증상

<84> 3 : 심한 모공 각화증 및 모공 비대증, 전형적인 면포관찰

<85>

【표 10】

구 분	시료처리전(왼쪽귀)	시료처리후(오른쪽귀)	억제율(%)
도두	1.76 ±0.12	1.2 1±0.08	31.3
백자인	1.74 ±0.10	1.44 ±0.12	17.2
황련	1.78 ±0.09	1.18 ±0.13	33.7
도두:백자인 (50:50)	1.73 ±0.12	1.12 ±0.09	35.3
도두:황련 (50:50)	1.69 ±0.14	1.14 ±0.10	32.5
백자인:황련 (50:50)	1.62 ±0.07	1.09 ±0.14	32.7
도두:백자인:황련 (34:33:33)	1.76 ±0.10	1.04 ±0.08	40.9
도두:백자인:황련 (70:20:10)	1.79 ±0.09	1.0 5±0.11	41.3
아젤라인산	1.58 ±0.12	1.13 ±0.14	28.5
70% 에탄올	1.76 ±0.10	1.73 ±0.09	1.7

&lt;86&gt; &lt;화상분석 관찰&gt;

<87> 육안 평가 실험이 끝난 후 각 시험군을 소디움 펜토바르비탈(Sodium pentobarbital)로 안락사시켜 양쪽 귀를 잘라 낸 후 기저부의 조직을 약 2.5 × 1.5 cm로 잘라 미온수(50 °C)의 물에 3분간 담갔다가 꺼내 표피만을 박리한 후 슬라이드 글라스에 안쪽면이 위로 오도록 잘 펴서 올린 다음 조직을 고정하여 상온 건조 후 입체 현미경을 사용하여 20배율로 관찰하고 화상분석기로 조직의 면포 수와 면적을 계산하고 단위 면포 당 면적을 평가하여 그 결과를 다음 표 11에 나타냈다.

&lt;88&gt; 【표 11】

구 분	시료처리전(원쪽귀) 면포면적/수( $\text{cm}^2$ )	시료처리후(오른쪽귀) 면포면적/수( $\text{cm}^2$ )	억제율(%)
도두	0.30 ±0.02	0.16 ±0.02	46.7
백자인	0.32 ±0.01	0.23 ±0.01	28.1
황련	0.30 ±0.02	0.17 ±0.02	43.3
도두:백자인 (50:50)	0.31 ±0.02	0.16 ±0.01	48.4
도두:황련 (50:50)	0.29 ±0.01	0.19 ±0.01	34.5
백자인:황련 (50:50)	0.31 ±0.02	0.17 ±0.02	45.2
도두:백자인:황련 (34:33:33)	0.32 ±0.01	0.11 ±0.02	55.4
도두:백자인:황련 (70:20:10)	0.32 ±0.01	0.11 ±0.02	65.6
아젤라인산	0.30 ±0.02	0.18 ±0.02	40.0
70% 에탄올	0.31 ±0.01	0.30 ±0.02	3.2

<89> 상기 표 11과 같이, 양성대조군인 아젤라인산(40.0%) 보다 면포감소율(Area/Count ratio)이 큰 것으로 확인된 추출물은 도두(46.7%), 황련(43.3%), 2종 이상 혼합 추출물이었고, 특히 도두: 백자인: 황련(70 : 20 : 10)이 배합된 추출물은 양성대조군에 비해 1.6배 높은 면포감소효과를 나타냈다. 본 시험을 통한 면포감소 효과시험은 육안적 관찰과 화상분석 결과가 비슷함을 보여주었다.

<90> 이상의 여드름 기작별 시험결과를 종합할 때 여드름 발병의 원인인 피.아크네스에 대한 항균효과, 피지생성억제효과, 면포용해효과, 과각화억제효과, 항염효과를 갖고 있으면서도 피부에 안전한 생약임이 증명되었다.

## &lt;91&gt; 실시예 7: 인체 피부 자극시험

<92> 여드름 예방 및 치료에 효과가 있는 도두, 백자인, 황련 및 2종 이상 혼합추출물을 함유한 에멀젼 제형으로 적용하였을 경우 피부 안전성 여부를 확인하기 위해 인체피부 자극시험(인체 첨포시험)을 행하였다. 20-30대의 건강한 남녀 30명을 대상으로 펁 챔버(Finn Chamber)에 준비된 시험물질(10% Patch Base)  $20 \mu\text{l}$ 를 적하시킨 후 70% 에탄 올로 세척 건조 후 시험부위인 윗팔뚝 안쪽부위에 얹어 미소공 테이프로 고정시켰다. 첨포는 24시간동안 도포하여 제거한 후 유성팬으로 시험부위를 표시하여 30분, 24시간 후에 각 시험 부위의 피부반응을 관찰하여 다음과 같이 등급별로 평가하였다.

<93> 다음 표 12에서 평균반응도는 ±는 1점, +는 2점, ++는 3점, +++는 4점으로 정하고 판정기준은 1 등급(무자극 범위)은 1미만, 2 등급(경자극 범위)은 3미만, 3 등급(중자극 범위)은 5미만, 4 등급(강자극 범위)은 5 이상을 기준으로 하였다.

&lt;94&gt;

&gt;1020020048073

출력 일자: 2003/8/18

【표 12】

구분	24시간				48시간				평균반응 도(n=30)	관정 등급
	±	+	++	+++	±	+	++	+++		
아크네 에멀젼 베이스	4	-	-	-	-	-	-	-	2.00	2
베이스 + 도두 0.3 증량%	2	-	-	-	-	-	-	-	1.00	1
베이스 + 백자인 0.3 증량%	6	-	-	-	-	-	-	-	2.75	2
베이스 + 황련 0.1 증량%	4	-	-	-	-	-	-	-	2.00	2
베이스 + 도두 0.3 증량% + 백자인 0.3증량%	4	-	-	-	-	-	-	-	2.00	2
베이스 + 도두 0.3 증량% + 황련 0.1증량%	3	-	-	-	-	-	-	-	1.50	2
베이스 + 백자인 0.3증량% + 황련 0.1 증량%	4	-	-	-	-	-	-	-	2.00	2

<95> 상기 표 12에 나타낸 것처럼 아크네 에멀젼 베이스는 안전범위의 자극값을 나타냈고 도두(1 등급)를 제외한 모든 생약원료가 시험처방에서 2 등급 이상의 자극을 나타내었다. 그러나, 황련은 색소침착 때문에 낮은 농도에서 시험하였다.

#### <96> 실시예 8 및 비교예 1: 에멀젼의 제조

<97> 상기 실시예 6에서 면포용해 및 감소효과가 가장 좋은 도두, 백자인, 황련(70 : 20 : 10) 혼합 추출물을 이용하여 다음 표 13의 조성 및 함량으로 에멀젼을 제조하였으며, 제조과정은 다음과 같다.

&lt;98&gt;

【표 13】

조성	실시예 8(중량%)	비교예 1(중량%)
1. 세테아릴알코올	5.00	5.00
2. 폴리소르베이트-60	0.80	0.80
3. 디메치콘 코폴리올	0.80	0.80
4. 사이크로메치콘	4.00	4.00
5. 호호바오일	2.00	2.00
6. 정제수	잔량	잔량
7. 도두·백자인·황련 (70:20:10)	0.50	제외
8. 메틸파라벤	0.20	0.20
9. 1,3-부틸렌글리콜	8.00	8.00
10. 카보머	0.15	0.15
11. 크산탄검	0.05	0.05
12. 폴리아크릴아미드/C13-14 이소파라핀/라우레스-7	1.20	1.20
13. 이미다졸리디닐우레아	0.20	0.20
14. 트리에탄올아민	0.15	0.15
15. 향	0.10	0.10

<99> 유상(Oil Phase) 원료(조성 1 ~ 5)를 정확히 청량하여 유상보조 탱크에 넣고 75 °C로 가열 용해하였다. 수상(Water Phase)의 조성 6 ~ 9의 원료를 청량하여 유화탱크에 주입한 후 조성 10 ~ 11원료를 청량하여 정제수에 교반 습윤시킨 후 유화탱크에 주입하고 75 °C로 가열 용해하였다. 유화탱크에 유상원료를 진공감압하에 주입한 후 유화기(Homogenizer) 3500 rpm. 페달믹서(Pedal Mixer) 25 rpm, 온도 75 °C, 시간 5분 동안 유화한 후 조성 12를 넣고 3분간 분산하고 조성 13 및 14를 소량의 정제수에 용해 분산하여 유화탱크에 주입하여 중화하였다. 진공탈포한 후 냉각하여 50 °C에 도달하면 향을 첨가하고 분산한 후 35 °C로 냉각하여 작업종료하고 숙성시켜 에멀젼을 제조하였다.

<100> 실시예 9 및 비교예 2: 첨부제의 제조

<101> 【표 14】

조성	실시예 9(중량%)	비교예 2(중량%)
1. 글리세린	15.00	15.00
2. 폴리아릴산	2.00	2.00
3. 아크릴레이트 코폴리머	2.00	2.00
4. 수산화암모늄	0.40	0.10
5. 디소듐-EDTA	0.05	0.05
6. 주석산	0.20	0.20
7. 메틸파라벤	0.20	0.20
8. 에탄올	1.00	1.00
9. 글리시리진산 디칼륨	0.10	0.10
10. 향	0.05	0.05
11. 도두:백자인:황련 (70:20:10)	0.50	제외
12. 프로필렌 글리콜	5.00	5.00
13. 정제수	잔량	잔량

<102> 조성 1 ~ 6의 원료를 칭량하여 용해탱크에 넣고 실온에서 균질교반하여 점성액을 만들고 조성 7 ~ 10을 실온용해하여 용해탱크에 주입한 후 균질교반하였다. 조성 11 ~ 13의 원료를 60 °C로 가온, 용해한 후 용해탱크에 소량씩 주입하여 첨부용 젤을 만들었다. 상기 처방으로 구성된 첨부용 젤을 어플리케이터 캡을 가진 적절한 피복 기계를 사용하여 접착조성물층을 실리콘화된 폴리에스테르 필름상에 가로 1m × 세로 1m에 700 g/m<sup>2</sup>으로 일정하게 피복하여 비공극성 폴리에틸렌 필름으로 적층하였다. 다층의 적층체 크기를 직경 1.5 cm<sup>2</sup>의 원형패취 형태로 자르고 최종적으로 종이, 저밀도 폴리에틸렌, 알루미늄으로 구성된 파우치 적층필름에 넣어 임상용 첨부제를 제조하였다.

<103> 실시예 10 : 에멀젼 및 청부제 임상시험

<104> 상기 실시예 8 및 비교예 1(실험군 15명, 대조군 15명), 실시예 9 및 비교예 2(실험군 15명, 대조군 15명)의 여드름 완화효과를 알아보기 위해 여드름을 가지고 있는 10-20대 사이의 건강한 남녀 60명을 피험자로 선정한 후 에멀젼은 1일 2회(아침, 저녁도포), 청부제는 1일 1회(저녁에 부착하고 아침에 떼어냄) 1개월간 여드름 부위에 도포 혹은 부착하여 여드름 예방 및 치료효과를 평가하였다. 판정방법은 실험 시작 전 피시험자의 피부상태, 여드름의 상태에 따라 일정한 등급을 매기고 사진촬영을 하였고 에멀젼 및 청부제 사용 1개월 후 여드름예방 및 치료정도를 사진촬영 및 육안관찰에 의해 판정하였으며 판정기준은 다음 표 15에 나타내었다.

<105> 【표 15】

피부상태 판정기준	
등급	
0	정상적인 상태
1	면포의 수가 매우 작거나 염증이 진행되지 않은 상태
2	면포의 수나 크기가 중간정도로 염증이 진행되지 않은 상태
3	적은 수의 염증성 구진이 존재하는 상태
4	적고 광범위한 결정 및 염증성 면포가 존재하는 상태
5	적은 수 및 작은 크기의 구진성 결절이 존재하는 상태
6	중간정도의 염증성 결절이 존재하는 상태
7	많은 수의 염증성 결절이 존재하는 상태
8	심한 결정성 면포가 존재하는 상태
9	심한 낭포 및 염증성 결절이 존재하는 상태

<106> 상기 표 15의 판정기준으로 피시험자의 여드름에 대한 등급이 3등급 이상의 감소를 타나내면 효과우수, 1 내지 2의 감소효과를 나타내면 효과중간, 감소가 나타나지 않으

면 효과없음, 시험전의 등급보다 시험후의 등급이 높으면 악화되는 것으로 판정하였으며 판정기준에 따라 본 발명의 에멀젼 및 첨부제를 사용하여 여드름 예방 및 치료효과에 대해 임상시험한 결과를 다음 표 16에 나타내었다.

&lt;107&gt; 【표 16】

구분(명)		효과우수	효과중간	효과없음	악화됨	부작용
에멀젼	시험군	12(80%)	2(13.3%)	0	0	1(6.7%)
	대조군	0	5(33.3%)	9(60%)	0	1(6.7%)
첨부제	시험군	11(73.3%)	4(26.7%)	0	0	0
	대조군	0	6(40%)	9(60%)	0	0

<108> 상기 표 16의 결과를 종합해 볼 때 본 발명의 도두, 백자인, 황련 추출물을 함유한 에멀젼 및 첨부제는 이들을 함유하지 않은 에멀젼 및 첨부제에 비하여 여드름 예방 및 치료효과가 우수하였다.

## &lt;109&gt; 실시예 11: 독성시험

<110> 도두, 백자인, 황련 추출물에 대하여 독성실험을 다음과 같이 수행하였다. 상기 추출물을 디메틸설포사이드(dimethylsulfoxide, DMSO)에 용해하고 물로 희석한 후 이를 마우스(군당 10마리)에 각각 100 mg/kg을 투여한 다음 7일간 관찰하였으나 사망하는 죄는 없었다.

**【발명의 효과】**

<111> 이상에서 상술한 바와 같이, 본 발명에 따른 도두, 백자인, 황련 추출물을 함유하는 피부외용제 조성물은 5 $\alpha$ -리덕타아제의 활성억제효과, 피.아크네스에 대한 항균효과, 항염효과, 면포형성억제 및 각질박리효과가 뛰어나 여드름 예방 및 치료에 매우 유용하다.

**【특허청구범위】****【청구항 1】**

도두, 백자인 및 황련 중에서 선택된 1종, 2종 또는 3종 생약 추출물이 함유됨을 특징으로 하는 여드름 예방 및 치료용 피부 외용제 조성물.

**【청구항 2】**

제 1 항에 있어서, 상기 조성물에서 생약 추출물이 0.001 내지 20.0 중량% 함유됨을 특징으로 하는 여드름 예방 및 치료용 피부 외용제 조성물

**【청구항 3】**

제 1 항 또는 제 2 항에 있어서, 상기 조성물은 도두 0.01 ~ 10 중량%와 백자인 0.01 ~ 10 중량%이거나 도두 0.01 ~ 10 중량%와 황련 0.001 ~ 5 중량%이거나 또는 백자인 0.01 ~ 10 중량%와 황련 0.001 ~ 5 중량%인 2종의 생약 추출물이 함유됨을 특징으로 하는 여드름 예방 및 치료용 피부 외용제 조성물.

**【청구항 4】**

제 1 항 또는 제 2 항에 있어서, 상기 조성물은 도두 0.01 ~ 10 중량%, 백자인 0.01 ~ 10 중량% 및 황련 0.001 ~ 5 중량%인 3종의 생약 추출물이 함유됨을 특징으로 하는 여드름 예방 및 치료용 피부 외용제 조성물.

**【청구항 5】**

제 1 항에 있어서, 상기 추출물은 도두, 백자인 및 황련을 각각 분말화하고 정제수, 메탄올, 에탄올, 프로판올, 부탄올, 글리세롤, 프로필렌글리콜, 1,3-부틸렌 글리콜, 메틸 아세테이트, 에틸 아세테이트, 벤젠, 헥산, 디에틸 에테르 및 디클로로메탄 중에서 선택된 1종 또는 2종 이상의 추출용매에 가열추출한 후 여과하고 감압농축 및 동결건조하여 수득한 것임을 특징으로 하는 여드름 예방 및 치료 목적의 피부 외용제 생약 조성물.

**【청구항 6】**

제 5 항에 있어서, 상기 도두, 백자인 및 황련을 각각 분말화하고, 이들의 혼합물을 추출하여 수득하거나, 상기 도두, 백자인 및 황련을 각각 분말화하고, 각각의 추출물이 수득된 후 혼합하는 것을 특징으로 하는 여드름 예방 및 치료 목적의 피부 외용제 생약 조성물.

**【청구항 7】**

제 1 항에 있어서, 상기 조성물이 에멀젼, 젤, 팩, 화장수, 비누 등 화장품 또는 연고제, 척부제 등의 의약품으로 적용됨을 특징으로 하는 여드름 예방 및 치료용 피부 외용제 조성물.